



(19) RU (11) 2 088 217 (13) C1  
(51) МПК<sup>6</sup> А 61 К 9/10, 31/02

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 93026325/04, 07.05.1993

(46) Дата публикации: 27.08.1997

(56) Ссылки: 1. Патент Великобритании N 1361068, кл. А 61 К 27/00, 1974. 2. Clark L.C. и др. Ring versus straight chain perfluorocarbon emulsions for perfusion media, Microvascular Research, 1974, 8, p.320 - 340. 3. federat. Proc., 1975, v. 34, p. 1499 - 1505. 4. Фармаколог, токсиколог, 1989, 52, N 5, с. 60 - 63. 5. Патент Великобритании N 2171330, кл. В 01 F 17/42, 1986. 6. K.C.Lowe. Emulsified perfluorochemicals for oxygen-transport to tissues: effects on lymphoid sistem and immunological competence. Oxygen Transport to Tissue X. Plenum Press N.Y.-L., 1988, p.655 - 663. 7. Comp. Biochem. Physiol., 1991, v. 969C, N 3, p. 561 - 565. 8. Biomat., Art. Cells., Art. Organs., 1988, 16 (1 - 3). p. 447 - 450. 9. Авторское свидетельство СССР N 1298976, кл. А 61 К 9/10, 1987. 10. Патент ЕПВ N 0231070, кл. А 61 К 9/10, 1987. 11. Биохимия, 1993, 58, N 4. 12. Clark L.C. и др. Mat. Res. Soc. Symp. Proc., 1989, v. 110, p. 129 - 134. 13. Биохимия, 1988, т. 53, N 4, с. 613 - 617. 14. Коллоид. журн., 1989, т. 51, N 6, с. 1212 - 1213. 15. Коллоид. журн., 1988, т. 50, N 4, с. 790 - 794. 16. Jatanouchi K. и др. Chem. pharm. Bull., 1985, v. 33, p. 1221 - 1231.

(71) Заявитель:

Институт биофизики клетки РАН

(72) Изобретатель: Капцов В.В.,

Образцов В.В., Кукушкин Н.И., Шипунова  
Н.А., Склифас А.Н., Кузнецов В.Е.

(73) Патентообладатель:

Институт биофизики клетки РАН

RU 2 088 217 C1

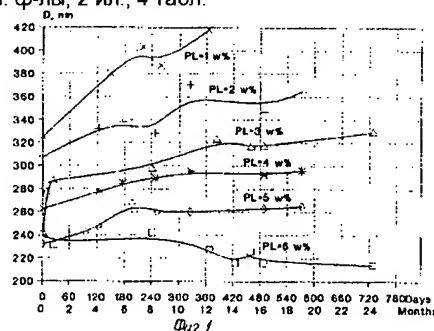
RU 2 088 217 C1

(54) ЭМУЛЬСИЯ ПЕРФТОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ГАЗОТРАНСПОРТНЫМИ СВОЙСТВАМИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и коллоидной химии и может быть использовано для получения кровезаменителей с газотранспортной функцией на основе эмульсий перфторорганических соединений (ПФС). Цель - изобретения уменьшение токсичности и увеличение стабильности при хранении эмульсий ПФС. Эмульсия ПФС с газотранспортными свойствами содержит в качестве носителя газов быстровыводящийся перфторуглерод, объемная концентрация которого в эмульсии составляет от 40 до 50 об.%, высокомолекулярную перфторированную добавку, концентрация которой составляет от 1 до 10 об.%, и фосфолипиды в концентрации от 2 до 6

мас.%. В качестве высокомолекулярной перфторированной добавки может использоваться перфтор-п-метил-циклогексилпиперидин. 2 з. п. ф-лы, 2 ил., 4 табл.





(19) RU<sup>(11)</sup> 2 088 217<sup>(13)</sup> C1  
(51) Int. Cl.<sup>6</sup> A 61 K 9/10, 31/02

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 93026325/04, 07.05.1993

(46) Date of publication: 27.08.1997

(71) Applicant:  
Institut biofiziki kletki RAN

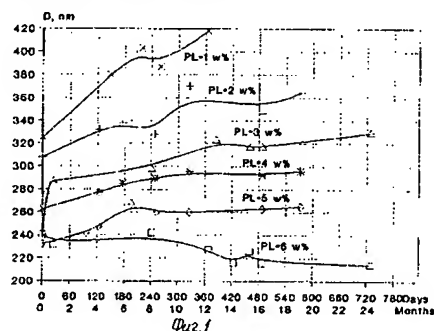
(72) Inventor: Kaptsov V.V.,  
Obraztsov V.V., Kukushkin N.I., Shipunova  
N.A., Sklifas A.N., Kuznetsov V.E.

(73) Proprietor:  
Institut biofiziki kletki RAN

(54) EMULSION OF PERFLUOROORGANIC COMPOUND EXHIBITING GAS-TRANSPORT PROPERTY

(57) Abstract:

FIELD: medicine, colloid chemistry.  
SUBSTANCE: emulsion has rapidly eliminating  
perfluorohydrocarbon (40-50 vol.%),  
high-molecular perfluorinated addition (1-10  
vol.%) and phospholipids (2-6 wt.-%).  
Perfluoro-n-methylcyclohexylpiperidine can  
be used as high-molecular perfluorinated  
addition. Emulsion can be used for blood  
substituents producing exhibiting  
gas-transport function. EFFECT: decreased  
toxicity, increased stability at storage. 3  
cl, 2 dwg, 4 tbl



RU 2 088 217 C1

RU 2 088 217 C1

Изобретение относится к медицине и коллоидной химии и может быть использовано для получения кровезаменителей с газотранспортной функцией.

Предлагаемое изобретение может быть использовано в медицине и медицинской промышленности для получения высокодисперсных эмульсий перфторорганических соединений (ПФС), служащих основой для приготовления газопереносящих кровезаменителей и перфузионных сред.

Кроме того, оно может быть использовано в фармацевтической промышленности и косметике, а также в научно-исследовательской практике, для приготовления высокодисперсных эмульсий на основе ПФС служащих в качестве кислороднесущих компонентов лекарственных и косметических мазей, кремов.

Эмульсии ПФС являются сложными коллоидными системами, состоящими из дисперсной среды раствора поверхностно-активного вещества (ПАВ) в воде и дисперсной фазы перфторорганического соединения или смеси нескольких ПФС.

ПФС являются главным компонентом эмульсии. Они химически инертны. Однако ПФС хорошо физически растворяют газы, в частности кислород и двуокись углерода. Но, к сожалению, ПФС не растворяются в воде и их приходится эмульгировать при изготовлении кровезаменителей и перфузионных сред. Одной из основных проблем кислородпереносящих эмульсий ПФС является захват и накопление частиц ПФС различными органами. Период полувыведения из организма ПФС является одним из показателей качества эмульсий ПФС. Количество остающегося в организме ПФС на какой-то момент времени зависит как от свойств ПФС (например, от давления паров) так и от величины введенной дозы.

В качестве ПАВ используются нетоксичные высокомолекулярные вещества, в частности, проксанолы (зарубежные аналоги плюроники) и фосфолипиды. Их количество в эмульсиях ПФС, по возможности, минимально и необходимо только для целей диспергирования ПФС. Однако ПАВ влияет на токсичность и реактогенность эмульсии ПФС. Влияние эмульсий ПФС на организм носит двойную природу а) физико-химическое влияние, т. е. физико-химическое воздействие ПАВ на клетки организма с иммунным ответом, изменениям в метаболизме и т.п. и б) физико-механическое влияние, например, через дисперсность частиц эмульсии, которые не должны быть в диаметре больше 200 нм из-за опасности закупорки капилляров и возникновении эмболии, и менее 50 нм из-за слишком быстрого выхода из кровеносного русла в органы. Поэтому средний диаметр частиц эмульсий ПФС, токсичность и реактогенность являются важными показателями качества эмульсий ПФС.

Токсичность эмульсий ПФС оценивают по показателю LD<sub>50</sub>, который представляет дозу введенной эмульсии в мл на кг массы тела животного, при которой выживает 50% животных. Причем различные животные, как правило лабораторные мыши, крысы или

кролики, имеют различную чувствительность и дают разную величину LD<sub>50</sub>. Наиболее чувствительными являются кролики.

Вследствие этого их используют для определения апиrogenности эмульсии ПФС.

Эмульгируемость эмульсий ПФС зависит как от свойств ПАВ так и от сродства ПФС к ПАВ, например, при использовании фосфолипидов в качестве ПАВ имеет значение температуры растворения ПФС в гексане, которая служит мерой липофильности ПФС.

Эмульсии ПФС должны иметь длительный срок хранения, а условия хранения должны быть простыми. Показателем хранения эмульсий ПФС является изменение среднего диаметра частиц в течение времени и как, частный случай, изменение среднего диаметра частиц за 6 месяцев или за 12 месяцев.

Нижеследующие показатели являются определенными при получении эмульсий ПФС:

- 1) средний диаметр частиц эмульсии;
- 2) период полувыведения ПФС из организма;
- 3) токсичность, мерой которой служит величина LD<sub>50</sub>;
- 4) давление паров;
- 5) кислородная емкость;
- 6) температура растворения в гексане;
- 7) изменение среднего диаметра частиц за 6 месяцев или за 12 месяцев при постоянной температуре хранения.

Сочетание и величина этих показателей позволяет определить преимущество одной эмульсии ПФС перед другой.

Следует отметить, что в настоящее время известны эмульсии ПФС "первого" и "второго поколения". Эмульсии ПФС "первого поколения" разрабатывались на основе неионогенных ПАВ и имели концентрацию ПФС не более 20 об. Отсюда проистекает ограниченность их кислородной емкости не более 7 об. Добиться большей концентрации ПФС не удается из-за резкого возрастания вязкой эмульсии. Эмульсии "первого поколения" не нашли клинического применения и использовались лишь в качестве экспериментальных, несмотря на использовавшиеся в них весьма перспективные ПФС.

Эмульсии "второго поколения" разработаны на основе фосфолипидных ПАВ и могут иметь концентрацию ПФС до 50 об. без заметного увеличения вязкости эмульсии. Поэтому они могут иметь кислородную емкость до 25 об. Однако эти эмульсии имеют свои недостатки, например, больший средний диаметр частиц, чем эмульсии "первого поколения".

Широко известна эмульсия ПФС содержащая перфтордекалин (ПФД) в количестве 10-20 вес. и стабилизированная проксанолами (плюроникиами) и фосфолипидами [1, 2] Эта эмульсия относится к "первому поколению".

ПФД является наиболее распространенным и легко доступным перфторорганическим соединением, применяемым для медико-биологических целей. Введенной внутривенно эмульгированной ПФД, как и другие перфторуглероды, накапливается в печени, селезенке и костном мозге, однако, при этом

не метаболизируется в биохимических реакциях. Из организма неизменные молекулы ПФД выводятся с выдыхаемым воздухом с периодом полувыведения 7 суток. Относительная безвредность перфторуглеродных эмульсий, содержащих ПФД, показана многочисленными экспериментами, начиная с исследований Р.Гейера [3] продемонстрировавшего возможность выживания крыс при тотальной замене крови на перфторуглеродную эмульсию.

Однако хорошо известно, что эмульсия ПФД стабилизированная 3-4% раствором проксанола 268 слабо устойчива во времени и расслаивается через несколько дней хранения при температуре +4 °С. Кроме того, эмульсия ПФД, стабилизированная раствором проксанола 268, является токсичной для кроликов начиная со значения LD<sub>50</sub> более 10 мл/кг [4].

Эмульсия ПФД стабилизированная проксанолом и фосфолипидами имеет несколько лучшую стабильность, однако в целом имеет те же недостатки.

Токсичность эмульсии ПФД не связана с его высокими значениями давления насыщенного паров или липофильности, а, по-видимому, обусловлена низкой агрегационной устойчивостью частиц эмульсии в кровеносном русле.

Явление гибели кроликов при введении эмульсии ПФД обуславливает необходимость создания новых составов эмульсий ПФС содержащих ПФД и не вызывающих гибели кроликов.

Было установлено, что небольшие добавки некоторых соединений существенно увеличивают срок хранения эмульсий ПФД.

Известна эмульсия ПФС, содержащая перфтордекалин (ПФД) в количестве 20 мас. и высокомолекулярную добавку С-16 НВРО (перфторпергидрофлюороантрена) в количестве 1 вес. стабилизированные плуороником F68 в количестве 4 мас. [5-8] Эмульсия содержит также NaCl 0,9 мас. Небольшое количество перфторированного полициклического углеводорода (предпочтительно перфторпергидрофлюороантрена) с более высокой температурой кипения, чем у основного перфторуглерода (ПФД) добавляют для повышения стабильности эмульсии. Эта эмульсия является эмульсией "первого поколения" и хранится более 1 месяца при температуре +4°С (табл. 1).

Однако, эмульсия ПФД с добавкой С-16 НВРО имеет те же недостатки, присущие эмульсиям ПФД, а именно:

- имеет невысокую стабильность эмульсии при хранении;
- имеет маленькую кислородную емкость;
- является токсичной для кроликов;
- является реактогенной.

Широко известны эмульсии ПФС, содержащие смесь двух перфторуглеродов, так называемые бинарные смеси ПФС. Один из компонентов бинарной смеси является быстровыводящимся ПФС, а второй выводится из организма относительно медленно. Медленновыводящийся компонент существенно улучшает стабильность эмульсий при хранении.

Эта эмульсия ПФС содержит ПФД и перфтор-п-метилциклогексилпиперидин

(ПФМЦП) в соотношении ПФД:ПФМЦП=2:1 с концентрацией дисперсной фазы 10-20 об. и стабилизированная проксанолом 268 в количестве 4-8 об. или проксанолом 268 в количестве 4-8 об. вместе с фосфолипидами яичного желтка (лецитин яичного желтка) в количестве 0,5 вес. [9] Эта эмульсия известна также под названием "Перфторан".

Эмульсия имеет средний размер частиц 0,157 мкм и разброс диаметров частиц от 0,05 до 0,34 мкм. Содержание ионов фтора в эмульсии 2,3•10<sup>-6</sup> моль/литр. Эмульсия имеет токсичность LD<sub>50</sub>=136 мл/кг для крыс. Токсичность для кроликов у нее заметно ниже чем у других бинарных эмульсий ПФС (табл. 1).

Эмульсия ПФД/ПФМЦП (2:1) имеет следующие недостатки:

- невысокую кислородную емкость;
- низкую стабильность эмульсии при хранении без замораживания;
- для длительного хранения необходимо замораживание;
- является реактогенной;
- содержит в своем составе большое количество относительно медленно выводящего ПФМЦП;

В настоящее время созданы эмульсии "второго поколения", в которых используются либо уже известные, либо новые ПФС, стабилизированные только фосфолипидами. Эти эмульсии позволяют эмульгировать высокий процент ПФС и имеют, таким образом, высокую кислородную емкость. Одновременно они имеют меньшую токсичность и пирогенность.

Наиболее близкой по сущности к заявляемой эмульсии ПФС является эмульсия описанная в [10] и взятая нами за прототип.

Эта эмульсия ПФС является эмульсией "второго поколения" и содержит перфтороктилбромид (ПФОБ) в количестве от 20 до 125 мас. и стабилизирована фосфолипидами в количестве 5 об. Период полувыведения ПФОБ 4 суток. Средний диаметр частиц эмульсии ПФОБ согласно прототипу равен 277 нм, а 95% частиц имеют диаметр менее 400 нм. Она стабильна в течение 18 месяцев при температуре +4 °С. Через 15 месяцев и 22 дня средний диаметр увеличивается до 406 нм. Индекс стабильности D<sub>0</sub>/D<sub>t</sub> для этой эмульсии равен 1,4 (D<sub>0</sub> средний диаметр частиц сразу после изготовления эмульсии, D<sub>t</sub> средний диаметр частиц через некоторое время хранения t, (табл. 1). Эмульсия является хорошим рентгеновским и УЗ контрастирующим агентом и имеет кислородную емкость равную 25 об. Эмульсия имеет низкую токсичность для кроликов (табл. 1).

Однако эмульсия ПФОБ, не являясь индуктором цитохрома Р-450, подвергается метаболизму в клетках печени с выделением ионов брома и радикалов [11] Кроме того, имея большую растворимость в липидах (35мМ), чем ПФД (26 мМ), он может с большей вероятностью нарушать или изменять структуру и функции биохимических мембран. Эти обстоятельства ставят под сомнение безвредность ПФОБ.

Эмульсия ПФОБ имеет следующие недостатки:

- большой средний диаметр частиц

эмульсии (более 250 нм);  
недостаточно высокую стабильность;  
ПФОБ участвует в метаболизме с  
выделением ионов брома и радикалов;  
получение эмульсии ПФОБ в 10 раз  
дороже, чем получение эмульсии ПФД;  
Целью изобретения является уменьшение  
токсичности и увеличение стабильности при  
хранении эмульсии ПФС.

Указанная цель достигается тем, что  
предложена эмульсия содержащая  
быстровыводящееся перфторорганическое  
соединение в количестве от 40 до 50 об.  
высокомолекулярную перфторированную  
добавку в количестве от 5 до 10 об. и  
поверхностно-активное вещество от 2 до 6  
вес. При этом, в качестве  
быстровыводящегося перфторорганического  
соединения транспортирующего газы  
используется перфтордекалин (ПФД) или  
перфтороктилбромид (ПФОБ), а в качестве  
высокомолекулярной перфторированной  
добавки -  
перфтор-п-метилциклогексилпиперидин  
(ПФМЦП). В качестве поверхностно-активного  
вещества используются фосфолипиды,  
например, фосфолипиды сои или яичного  
желтка.

В предлагаемой эмульсии  
перфтордекалин (ПФД,  $C_{10}F_{18}$ ) или  
перфтороктилбромид (ПФОБ,  $C_8F_{17}Br$ )  
является основным компонентом  
перфторуглеродного кровезаменителя и ими  
осуществляется перенос основного  
количества кислорода к тканям.  
Перфтор-п-метилциклогексилпиперидин  
(ПФМЦП) применяется в качестве  
стабилизатора эмульсии, хотя сам также  
переносит кислород к тканям.

Контрольные эмульсии готовили на  
гомоенизаторе высокого давления при  
давлении 40 МПа в асептических условиях,  
обеспечивающих стерильность и  
апирогенность эмульсии. Средний диаметр  
частиц эмульсии измерялся на  
фотонно-корреляционном спектрометре  
"Coulter N4". Исследовали эмульсии  
следующих перфторуглеродов: ПФОБ, смеси  
ПФОБ/ПФМЦП и смеси ПФД/ПФМЦП.

Все эксперименты по токсичности  
эмульсий выполнены на серых  
кроликах-самцах массой 2,5-3,0 кг. Эмульсию  
вводили в краевую вену уха.

Сначала была установлена величина  
токсичности эмульсии ПФД для кроликов.  
LD<sub>50</sub> эмульсии ПФД для кроликов находится в  
интервале 10-15 мл/кг, что эквивалентно 2-3  
г чистого ПФД на 1 кг веса тела животного.  
Доза эмульсии 20 мл/кг является абсолютно  
смертельной.

После внутривенного введения эмульсии  
ПФД в дозе 20 мл/кг гибель кроликов  
наступает спустя 5-7 суток. При введении  
меньших доз 15 мл/кг, все патологические  
процессы развиваются медленнее. Первые  
5-7 суток животные внешне ведут себя  
нормально, отдышки нет, аппетит и вес в  
норме. Через 7-10 суток появляется четко  
выраженная гипоксия, потеря аппетита и  
веса. Гибель кроликов наступает через 2-3  
недели.

В табл. 2 представлены данные о  
выживаемости кроликов после введения  
эмульсии ПФД.

Было высказано предположение, что

гибель кроликов при введении эмульсии ПФД  
наступает в результате газовой эмболии,  
приводящей к блокаде легочных капилляров  
[12] Для проверки этого предположения  
вводили кроликам эмульсию ПФТПА,  
давление насыщенных паров которого  
составляет 20 мм Hg при 37 °С, что  
существенно выше аналогичного параметра  
для ПФД 12 мм Hg. Эмульсия ПФТПА,  
введенная внутривенно в дозе 20 мл/кг не  
обладала токсическим эффектом и не  
вызывала каких-либо заметных изменений в  
состоянии кроликов.

С другой стороны, причиной гибели  
кроликов могла бы быть способность ПФД  
индуцировать цитохром Р-450 в печени [4]  
или вызывать какие-либо другие изменения,  
связанные с относительно высокой  
растворимостью ПФД в липидной фазе  
биологических мембран [13] Для проверки  
этого предположения кроликам вводили  
эмульсию ПФОБ, растворимость которого в  
липиды в 2 раза выше, чем у ПФД. Тем не  
менее, эмульсия ПФОБ в дозе 20 мл/кг не  
вызывала ни гибели кроликов, ни каких-либо  
заметных изменений в их состоянии.

Интересно отметить, что эмульсия ПФД  
оказывается не токсичной для мышей и крыс  
даже в дозе 40-60 мл/кг.

На наш взгляд, гибель кроликов после  
введения эмульсии ПФД может быть связана  
с уникальным набором физико-химических  
свойств характерных для этого  
перфторуглерода. В частности, низкая  
прочность адсорбционного слоя,  
образованного молекулами  
поверхностно-активных веществ на  
поверхности частиц эмульсии ПФД, делает  
эту эмульсию склонной к агрегации [14, 15]  
Согласно нашим данным образование  
плотных агрегатов из частиц эмульсии ПФД с  
размерами в десятки микрон наблюдается в  
кровеносном русле кроликов через 1-2 дня  
после введения эмульсии.

Введение в состав  
перфтор-п-метилциклогексилпиперидина  
(ПФМЦП) предотвращает эффект токсичности  
эмульсии ПФД, что подтверждается данными  
приведенными в табл. 3.

Видно, что присутствие во  
перфторуглеродной фазе эмульсии ПФД  
небольших количеств ПФМЦП приводит к  
исчезновению токсичности эмульсии ПФД.  
Однако известно, что ПФМЦП  
используемый для получения стабильных  
эмульсий, характеризуется низкими  
значениями давления насыщенных паров и  
липофильности и вследствие этого медленно  
выводится из организма [16] Поэтому  
уменьшение его содержания в составе  
эмульсии ПФД без потери стабильности  
имеет большое положительное значение, так  
как при малых концентрациях ПФМЦП в  
эмульсии его остается в организме меньше.

Из табл. 3 следует, что несмотря на тот  
факт, что всем кроликам введена  
смертельная доза ПФД, гибель животных не  
наблюдается при использовании эмульсии с  
добавкой ПФМЦП.

Чтобы убедиться, что именно ПФМЦП  
снижает токсичность эмульсии ПФД, в  
нескольких сериях экспериментов кроликам  
вводилась эмульсия ПФМЦП как до, так и  
после эмульсии ПФД. Эмульсия ПФМЦП  
предотвращала летальный эффект эмульсии

ПФД. В контроле вводились проксанол 268, реополиглюкин и суспензия лецитина. Эти данные приведены в табл. 4.

Выживаемость кроликов при введении эмульсии ПФОБ и эмульсии ПФОБ/ПФМЦП (2:1) в дозе 20 мл/кг была равна 100%

Из приведенных данных видно, что предлагаемая эмульсия на основе ПФД с концентрацией от 40 до 50 об. с добавкой ПФМЦП в количестве от 5 до 10 об. стабилизированная фосфолипидами, например, сои или яичного желтка, в количестве от 2 до 6 мас. имеет меньшую токсичность, чем аналогичные эмульсии ПФД.

Кроме эффекта снижения токсичности добавление небольших количеств ПФМЦП приводит к существенной стабильности эмульсии при хранении.

На фиг. 1 приведена зависимость изменения среднего диаметра частиц эмульсий ПФД/ПФМЦП (9:1)=40 об. эмульгированных различным количеством фосфолипидов от времени хранения.

Из фиг. 1 видно, что эмульсии ПФД/ПФМЦП (9:1)=40 об. эмульгированные фосфолипидами с концентрацией 2-6 об. достаточно стабильны при хранении в течение более 12 месяцев. Вместе с тем с уменьшением концентрации фосфолипидов средний диаметр частиц возрастает, как при приготовлении, так и при хранении, что свидетельствует о зависимости стабильности эмульсий от концентрации фосфолипидов. В первый месяц хранения происходит переоконденсация частиц эмульсий (Оствальдово созревание), что проявляется в изменении среднего диаметра частиц. Достигнув равновесных параметров, эмульсии хранятся длительное время практически без изменения среднего диаметра частиц.

На фиг. 2 приведены зависимости изменения среднего диаметра частиц эмульсий ПФД/ПФМЦП (9:1)=40 об. ПФОБ/ПФМЦП (9:1)=40 об. и ПФОБ=40 об. (прототип), стабилизированных фосфолипидами сои в концентрации 3 об. Из фиг. 2 видно, что добавление к ПФД или ПФОБ небольшого количества ПФМЦП приводит к существенной стабилизации среднего диаметра частиц.

В табл. 1 представлены данные сравнительного анализа стабильности при хранении аналогов, прототипа и предлагаемой эмульсии по индексу стабильности  $D_0/D_t$ , где  $D_0$  средний диаметр частиц сразу после изготовления эмульсии, а  $D_t$  средний диаметр частиц через некоторое время хранения  $t$ . Из данных табл. 1 видно, что средний диаметр частиц эмульсии-прототипа увеличивается через 11 месяцев на 87% при концентрации фосфолипидов 5% а предлагаемая эмульсия изменяется лишь на 23% при концентрации фосфолипидов 3% и практически не изменяется (уменьшение на 2%) при концентрации фосфолипидов 6%

Ниже приведены конкретные примеры состава предлагаемой перфторуглеродной эмульсии с газотранспортными свойствами.

Пример 1. Эмульсия с концентрацией ПФД 40 об. с добавкой ПФМЦП в количестве 10 об. стабилизированная фосфолипидами сои в количестве 6 мас. Она имеет средний диаметр частиц после изготовления 240 нм. Через 12 месяцев средний диаметр частиц

эмульсии стал 236 нм, т.е. индекс стабильности этой эмульсии через 12 месяцев составляет 0,983. Токсичность эмульсии для крыс равна  $LD_{50}=240$  мл/кг. Выживаемость кроликов при дозе введенного ПФД 20 мл/ко равна 100%

Пример 2. Эмульсия с концентрацией ПФД 50 об. с добавкой ПФМЦП в количестве 5 об. стабилизированная фосфолипидами сои в количестве 2 мас. Она имеет средний диаметр частиц после изготовления 265 нм. Через 12 месяцев средний диаметр частиц эмульсии стал 320 нм, т.е. индекс стабильности этой эмульсии через 12 месяцев составляет 1,21. Токсичность эмульсии для крыс равна  $LD_{50}=245$  мл/кг. Выживаемость кроликов при дозе введенного ПФД 20 мл/кг равна 100%

Пример 3. Эмульсия с концентрацией ПФОБ 40 об. с добавкой ПФМЦП в количестве 10 об. стабилизированная фосфолипидами яичного желтка в количестве 6 мас. Она имеет средний диаметр частиц после изготовления 220 нм. Через 12 месяцев средний диаметр частиц эмульсии стал 246 нм, т.е. индекс стабильности этой эмульсии через 12 месяцев составляет 1,12. Токсичность эмульсии для крыс равна  $LD_{50}=235$  мл/кг. Выживаемость кроликов при дозе введенного ПФД 20 мл/кг равна 100%

Пример 4. Эмульсия с концентрацией ПФОБ 50 об. с добавкой ПФМЦП в количестве 5 об. стабилизированная фосфолипидами яичного желтка в количестве 2 вес. Она имеет средний диаметр частиц после изготовления 240 нм. Через 12 месяцев средний диаметр частиц эмульсии стал 236 нм, т.е. индекс стабильности этой эмульсии через 12 месяцев составляет 0,983. Токсичность эмульсии для крыс равна  $LD_{50}=240$  мл/кг. Выживаемость кроликов при дозе введенного ПФД 20 мл/кг равна 100%

Результаты анализа образцов предлагаемой эмульсии даны в сравнении с аналогами и прототипом в табл. 1.

Как видно из табл. 1, предлагаемая перфторуглеродная эмульсия с газотранспортными свойствами имеет следующие преимущества:

- меньшую токсичность;
- хорошую выживаемость кроликов при введении смертельной дозы ПФД;
- лучшую стабильность при хранении (лучший индекс стабильности);
- после введения в организм в органах остается меньшее количество ПФМЦП вследствие его меньшего количества в составе эмульсии;
- уменьшается отек легких;
- является относительно дешевой, так как состоит из легко синтезируемых ПФС.

#### Формула изобретения:

1. Эмульсия перфторорганических соединений с газотранспортными свойствами, содержащая быстровыводящееся перфторорганическое соединение, высокомолекулярную перфторированную добавку и фосфолипиды, отличающаяся тем, что содержание быстровыводящегося перфторорганического соединения в эмульсии составляет 40-50 об. высокомолекулярной перфторированной добавки 1-10 об. а фосфолипидов 2-6 об.

2. Эмульсия по п. 1, отличающаяся тем,

что в качестве высокомолекулярной перфторированной добавки используется перфтор-п-метилциклогексилпиперидин.

3. Эмульсия по п. 1, отличающаяся тем,

что в качестве быстровыводящегося перфторорганического соединения используется перфтордекалин или перфтороктилбромид.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

-7-

RU 2 0 8 8 2 1 7 C 1

RU 2 0 8 8 2 1 7 C 1

13 2128802 ПЯ

Таблица 1

Сравнительный анализ аналогов, прототипа и предлагаемой эмульсии

Тип эмульсии и ее состав	Стабильность				Кислородная емкость, $\rho O_2 = 760$ mm.Hg	Вязкость	Период полувыведения			Токсичность для крыс $LD_{50}$ мл/кг	Выживаемость кроликов, доза ПФД =20 мл/кг	Реактогенность	Участие в метаболизме
	Ср. диаметр частиц		Хранение при +4°C				ПФБО	ПФД	ПМЦП				
	после изг. $D_0$	после хран. $D_t$	время t	индекс $D_t/D_0$									
	нм	нм	сут.	-									
Аналог: ПФД/с16 НВРО ПФД=20 об. % С-16=1 об. % плюроник F-68=4 об. %	238	293	63	1,23	10	5	-	7	-	-	0	нет	
Аналог: а.с. № 1298976 "Перфторан", СССР ПФД/ПФМЦП (2 : 1)=10 об. % проксанол 268=4 об. % фосфолипиды=0,5 об. %	157	400	90	2,55	7	3,5	-	7	65	136	100	высокая	нет
Прототип: "Охугент", США ПФОБ=45 об. % фосфолипиды=6 об. %	287	406	472	1,47	25	20	4	-	-	235	100	низкая	да
Предлагаемая эмульсия ПФД/ПФМЦП (9 : 1)=40 об. % фосфолипиды=5 об. % ПФОБ/ПФМЦП (9 : 1)=40 об. % фосфолипиды=3 об. %	232	263	720	1,13	17,5	14	-	7	65	240	100	низкая	нет
	255	321	540	1,26	22	16	4	-	65				да

RU 2088217 C1



Таблица 2

Выживаемость кроликов при введении эмульсии ПФД

Тип эмульсии	Доза эмульсии мл/кг	Количество животных	% выживших животных
Эмульсия ПФД стабилизированная проксанолом	5	5	100
	10	10	100
	15	5	0
	20	10	0
Эмульсия ПФД стабилизированная фосфолипидами	15	5	100
	20	5	0

Таблица 3

Выживаемость кроликов при введении различных эмульсий ПФС на основе ПФД, содержащих летальную дозу ПФД=20 мл/кг

Тип эмульсии	Доза эмульсии мл/кг	Количество животных	% выживших животных
ПФД (аналог [2,16])	20	10	0
ПФД/ПМЦП=2 : 1 ("Перфторан")	30	10	100
ПФД/ПМЦП=5 : 1	24	10	100
ПФД/ПМЦП=10 : 1	22	5	100
ПФД/С-16=20 : 1 (аналог [4,17])	20	5	0
ПФД/ПФПА=7 : 3 ("Fluosol/DA")	30	5	0

Таблица 4

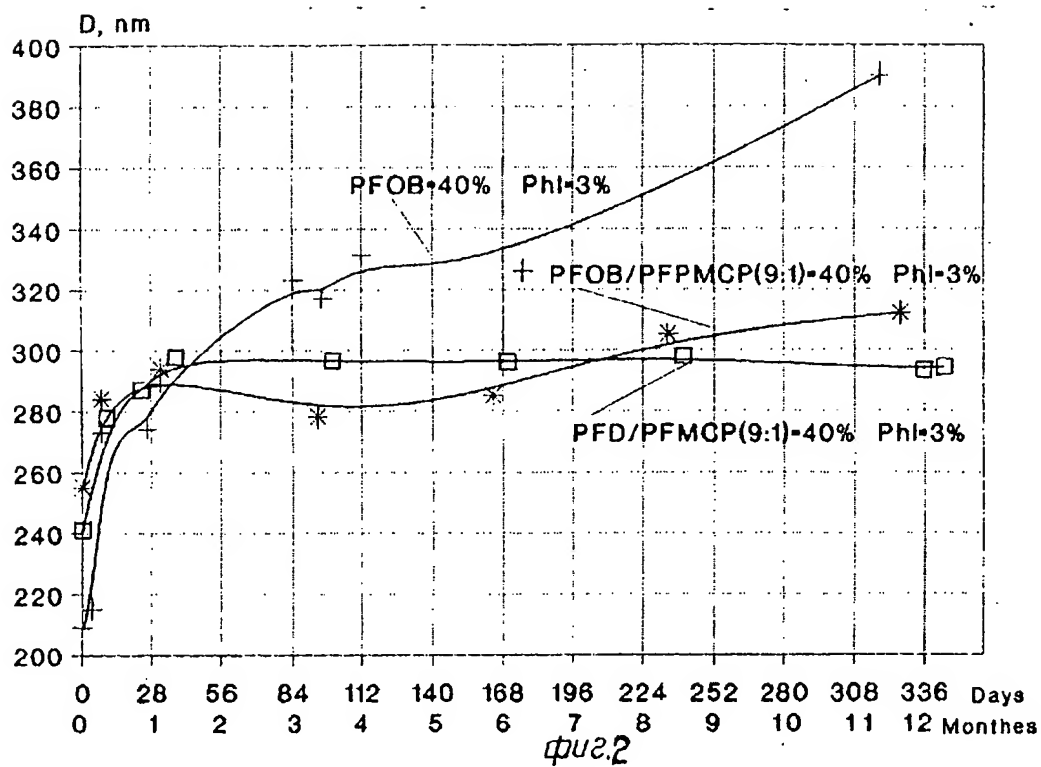
Выживаемость кроликов при введении летальных доз эмульсии ПФД (20 мл/кг) на фоне предварительно введенной эмульсии ПФМЦП и использование эмульсии ПФМЦП, проксанола 268, лецитина и реополиглюкина для лечения животных

Препарат	Время введения препарата	Доза эмульсии мл/кг	Количество животных	% выживших животных
Эмульсия ПФМЦП	7-10 суток до введения эмульсии ПФД	10	7	100
Эмульсия ПФМЦП	7-10 суток до введения эмульсии ПФД	10	7	100
Проксанол 268	5 суток после введения эмульсии ПФД	10	5	0
Реополиглюкин	5 суток после введения эмульсии ПФД	10	5	0
Лецитин (суспензия)	5 суток после введения эмульсии ПФД	10	5	0

RU 2088217 C1

RU 2088217 C1

RU 2088217 C1



RU 2088217 C1